中華農業研究 (Jour. agric. Res. China) 30(2)：141～145 (1981)

蝴蝶蘭根組織培養之研究[1]

林 瑞 松[2]

摘要：本研究在探討蝴蝶蘭根組織培養明確之配方。結果摘錄如下：1.蝴蝶蘭根經 B_5 無機鹽及有機鹽，100 mg/l myo-inositol, 30 g/l 蔗糖，5 mg/l Naphthaleneacetic acid (NAA), 10mg/l 6-furfurylaminopurine (Kinetin) 的培養基 (pH 5.5) 誘導，得癒合組織及芽球相似物突起。2.芽球相似物繼代培養於相同配方的固態培養基6個月後形成蝴蝶蘭幼植株。3.芽球相似物僅能在根尖部位形成。4.照光與未照光處理對芽球相似物之誘導均未有顯著之影響。

蘭科植物一直被公認為是高貴珍奇的植物，其經濟價值遠較一般花卉為高。蝴蝶蘭是蘭科植物的佼佼者，花色美花期長又可作胸花，且消費量有逐漸增加之趨勢。在保持品種特性，大量供應之要求下，植株大量增殖的技術是發展蘭花事業的重要關鍵。

自Morel 1960 年發表用分生組織培養作蘭花營養繁殖認為可行後 (7)，各國專家學者對組織培養大量繁殖的方法逐漸重視。在蝴蝶蘭方面，田中等首先在 1975 年發表用添加劑及微量元素成份不明的花寶 (Hyponex) 加上生長調節劑可使蝴蝶蘭葉片產生芽球相似物 (protocorm like body, PLB)，但成功率偏低 (4)。作者於1979年以 B_5 修正配方培養蝴蝶蘭，可誘導葉片產生癒傷組織及芽球相似物，並使分化成功苗 (1)。Gamborg 1968 年以 B_5 培養基從事大豆根培養成功 (6)。本試驗以其配方為藍本加以修正，探討蝴蝶蘭以根組織培養大量繁殖之可行性。

材料及方法

供試材料係蝴蝶蘭白花品種 (*Phalanopsis amabilis*) 生長 150 日之實生苗，取其根尖長約 1 cm 部位試驗，在經高壓殺菌後之固態及液態培養基 (pH 5.5) 上培養。培養基含有 B_5 配方之無機鹽及有機鹽，100 mg/l myo-inositol, 1.0 mg/l Nicotinic acid, 1.0 mg/l pyridoxine・HCl, 10.0 mg/l thiamine・HCl, 30,000 mg/l 蔗糖及不同濃度之 NAA 和 Kinetin (表1)，固態培養基含洋菜 1.0%。試驗分為兩部份。

一、芽球相似物之誘發：以每日 12 hr 照光及黑暗二處理，配合固態及液態培養。液態培養以 30 rpm 行振盪處理，於 25°C 恆溫，光強 2000 lux 下培養進行試驗。

二、誘導分化之繼代培養：在照光處理下使用表1之四種不同植物荷爾蒙濃度同時進行固態及液態培養。

結 果

本試驗證明，根雖無莖葉所附之腋芽，但根尖較具細胞分裂活力的部位，亦可產生芽球相似物。

---

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 985 號。
2. 本所園藝系技士。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

含 5 mg/l NAA, 10 mg/l kinetin 之固體培養基在黑暗下有 65 %可誘導形成 PLB，在照光下有60%形成 PLB（表1），含 5 mg/l NAA, 10 mg/l kinetin 之液態培養基有 70% 可誘發出芽球相似物。（表2）

表 1. 蝴蝶蘭根在不同成分固態培養基形成芽球相似物之百分率

Table 1. Percentage of protocorm-like body formation from *Phalaenopsis* root cultured at solid medium.

處 理 Treatments	添加生長調節劑 Plant hormones		接種根數 No. of root cultured	形成芽球相似物之根數 PLB-forming root No.	
	NAA mg/l	Kinetin mg/l			
Light	2	2	20	1	5%
	5	5	20	6	30%
	5	10	20	12	60%
	10	5	20	4	20%
Dark	2	2	20	2	10%
	5	5	20	5	25%
	5	10	20	13	65%
	10	5	20	4	20%

表 2. 蝴蝶蘭根在不同成分液態培養基下形成芽球相似物之百分率

Table 2. Percentage of protocorm like body formation from *Phalaenopsis* root cultured at liquid medium.

處 理 Treatments	添加生長調節劑 Plant hormone		接種根數 No. of root cultured (A)	形成芽球相似物之根數 PLB-forming root No.	
	NAA mg/l	Kinetin mg/l			
Light	2	2	20	2	10%
	5	5	20	5	25%
	5	10	20	14	70%
	10	5	20	5	25%
Dark	2	2	20	3	15%
	5	5	20	6	30%
	5	10	20	14	70%
	10	5	20	5	25%

外觀形態上之變化：固體培養基上培養之根在4～5週後開始產生芽球相似物三個月後芽球相似物呈球狀，各芽球相似物甚一致，無彼此抑制現象。（圖1）。於固態培養基的光處理與暗處理 PLB 的誘發率差異不大。在液態培養基上，培養3～4週後即開始有微小突起，進而產生芽球相似物，三個月後液態培養基內之芽球呈扁平狀。（圖2）。將芽球相似物繼代培養於含 5 mg/l NAA, 10 mg/l kinetin 固體培養基上六個月後可分化發育成幼苗。（圖3）。而在液體培養基則僅得分枝狀的根，無法分化成幼苗。

討 論

蝴蝶蘭屬單子葉植物，而一般單子葉植物以營養器官爲繁殖材料，以帶有腋芽之莖葉，始能在苗圃繁殖成功。因爲永久組織細胞很少能再變成可分裂細胞，組織培養科技進步已能使不帶腋芽的葉亦可繁殖材料。尤其蘭科植物研究甚多，始自 Wimber 1965 年以液體培養使東亞蘭 (*Cymbidium*)

葉片長出原生芽球 [12]，以後研究報告甚多。唯以根爲試驗對象較少。筆者者前曾以蝴蝶蘭葉片爲材料試驗，在 B_5 配方主要元素下添加植物荷爾蒙 5 mg/l NAA, 5 mg/l kinetin 有 60 %成功率 [1]。而本試驗根培養則需 5 mg/l NAA, 10 mg/l kinetin。顯示根組織對荷爾蒙之需求較葉爲多。

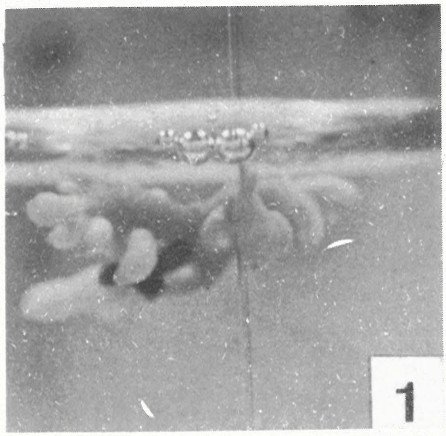
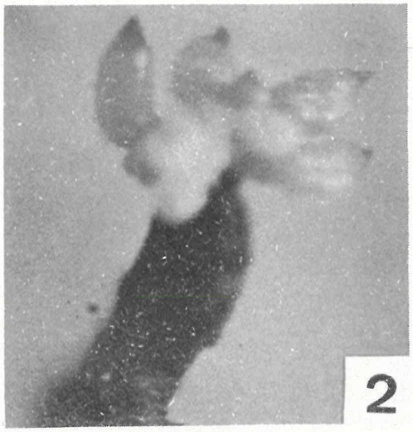
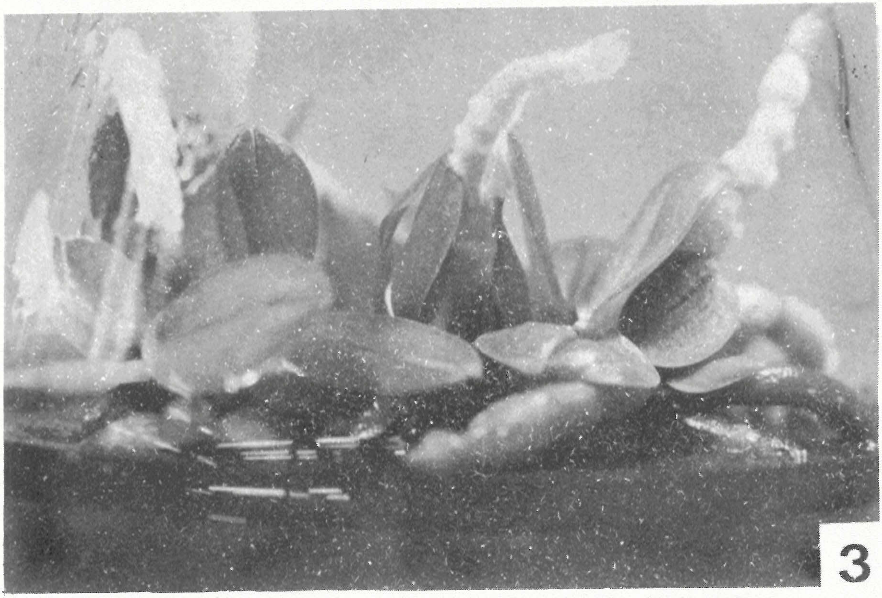

圖 1. 蝴蝶蘭根於液態培養基，經 3 個月芽球相似物發生的狀況。**圖 2.** 蝴蝶蘭根於固態培養基上，經 3 個月培養後發生之芽球相似物，彼此之發育并無相互抑制現象。**圖 3.** 由芽球相似物分化完成幼苗費時六個月。

Fig. 1. Formation of PLB on the root of infant *Phalaenopsis* after 3 months cultured in liquid medium. **Fig. 2.** No inhibition among PLB of *Phalaenopsis* root cultured for 3 months in solid medium. **Fig. 3.** Baby *Phalaenopsis* developed PLB in 6 months.

張氏 1978 年在人參根癒合組織之誘導培養試驗中，亦表示根組織對有機營養和荷爾蒙之需求較子葉組織爲多 [2]，是否根之逆分化誘導所需荷爾蒙量均較其他組織爲多，有待更進一步研究。

本試驗，固態與液態培養結果之比較，初期，癒合組織與芽球相似物之誘導，以液態培養基效果較佳，較早出現且數目較多。Wimber 1965年曾提出東亞蘭（*Cymbidium*）之莖部分生組織培養使用液體振盪培養較易引發癒合組織的形成，[12]。但並非其他植物亦以液體培養基培養均較固體培養基效果好。Murashige, Shabde, Hasegawa, Takatori & Jones 1972 年提出蘆筍及天人菊的莖頂培養初期誘發癒合組織則以固體培養基較佳[8]。Steward *et al* 以蘆筍及胡蘿蔔爲實驗亦認爲初期以固體培養基較易形成癒傷組織，而癒傷組織之增殖則以液體培養基爲佳[9,10]。不同的植物而有不同的結論。此究竟係培養基本身物理性質滲透壓之影響抑或生育習性適應與否所致，需有生理生化方面探討。

本試驗，芽球相似物之分化發育觀察，於液態培養基無法達到分化之目的，僅能於固體培養基上歷經六個月始能達到分化發育成健全植株，成功率 100%（如圖3），Simonsen & Hildebrandt 1971年提出唐菖蒲生長點誘發之癒傷組織在液態培養中僅有根而未有莖與葉之分化，而在固體培養基上可分化成根莖葉[11]。與本試驗結果相同。

光期十二小時與暗處理之比較（如表1、2）顯示影響不顯著。因此蝴蝶蘭根之培養誘導芽球相似物之產生，對光不甚重要。爲節約能源可置暗室處理。

由圖3顯示，芽球相似物的產生僅限於根尖部位，而在葉組織培養中芽球相似物產生的部位不限於葉基部位，其餘葉緣部位亦會產生[1]。董氏 1975年謂蝴蝶蘭根尖部分爲全根中僅有細胞分裂能力及生長的部位[3]。因此蝴蝶蘭根培養須帶有根尖始能成功。

參 考 文 獻

1. 林瑞松・1980・蝴蝶蘭葉插組織培養之研究・中華農業研究 29(3)：195-201。
2. 張唯勤、邢禹依・1978・韓國人參根癒合組織之誘導培養與再分化形成不定根・科學發展 6：76-79。
3. 董新堂・1975・蝴蝶蘭專集・247pp. 臺灣中華書局。
4. 田中道男、長谷川嘻、五井正憲・1975・單莖性ラン科植物の組織培養による榮養繁殖に關する研究第一報・日本園藝學會雜誌 44(1)：47-58。
5. Ammirato, P. V. and F. C. Steward. 1971 . Some effects of environment on the development of embryo from cultured free cells. Bot. Gaz. 132 (2) : 149-158.
6. Gamborg, O. L., R. A. Miller and K. Ojima. 1968. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50 : 151-158.
7. Morel, G. M. 1960. Producing virus free cymbidiums. Am. Orch. Soc. Bull. 29 : 495-497.
8. Murashige, T., M. N. Shabde, P. M. Hasegawa, F. H. Takatori and J. B. Jones. 1972. Propagation of asparagus through shoot apex culture. Nutrient medium for formation of planlets, J. Am. Soc. Hort. Sci. : 158-161.
9. Steward, F. C, M. O. Mapes and K. Mears. 1958. Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. Am. J. Bot. 45 : 705-708
10. Steward, F. C. andM. O. Mapes. 1971. Morphogenesis in aseptic cell cultures of cymbidium. Bot. Gaz. 132 (1) : 65-70.
11. Simonsen, J. and A. C. Hildebrandt. 1971. In vitro growth and differentiation of gladiolus plants from callus culture. Can. J. Bot. 49 : 1817-1819.
12. Wimber, D. E. 1963. Clonal multiplication of cymbidium throunh tissue culture of the shoot meristem. Am. Orch. Soc. Bull. 32 : 105-107.

Studies on the colonal propagation of *Phalaenopsis* by root culture[1]

Ruey Song Lin[2]

Summary

This paper describes an efficient method of clonal propagation through *Phal aenopsis* root cultued in vitro. The result as summaried as follows :

Calli and protocorm like bodies (PLB) were induced from root tip by using Gam borg's B_5 basal medium with 100mg/l myo-inositol, 30,000mg/l sucrose, 5mg/l NAA and 10mg/l kinetin. The pH was adjusted to 5.5. In similar solid medium, the PLB were then developed into baby phalaenopsis plants in 6 months. The formation ability of PLB was only on root tip. There is no significant variation between light and dark treatment.

---

1. Contribution No. 985 from the Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Horticulturist, Department of Horticulture, TARI, Wufeng, Taichung Hsien , Taiwan 431, ROC.